

Aus dem Institut für Veterinär-Pharmakologie und -Toxikologie
der Freien Universität Berlin
Arbeitsgruppe Professor Dr. H. - H. Frey

Untersuchungen über Typ und Aktivität der Pseudocholinesterase (E.C.3.1.1.8) im Serum reinrassiger Hunde

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinz Meyer
Tierarzt aus Berlin

1971
Journal-Nr. 719

Aus dem Institut für Veterinär-Pharmakologie und -Toxikologie
der Freien Universität Berlin
Arbeitsgruppe Professor Dr. H. - H. Frey

Untersuchungen über Typ und Aktivität der Pseudocholinesterase (E.C.3.1.1.8) im Serum reinrassiger Hunde

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinz Meyer
Tierarzt aus Berlin

1971
Journal-Nr. 719

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. J. B o c h
Referent: Prof. Dr. H. - H. F r e y
Korreferent: Prof. Dr. L. F. M ü l l e r

Tag der Promotion: 11. Februar 1971



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	4
Methodik	15
Meßprinzip der Esterase-Aktivität	16
Bestimmung der Dibucain-Zahl	17
Durchführung der Versuche	17
Ergebnisse	19
I. Der Cholinesterase-Typ	19
II. Die Cholinesterase-Aktivität	19
a) Geschlechtsbedingte Differenzen	21
b) Rassebedingte Differenzen	24
c) Altersbedingte Differenzen	25
d) Durch den Nährzustand bedingte Differenzen	26
e) Pathologisch bedingte Differenzen	28
Diskussion	29
I. Typ der Pseudocholinesterase	29
II. Cholinesterase-Aktivität	31
Zusammenfassung	37
Literatur	38

EINLEITUNG

Die Pseudocholinesterase, heute offiziell als Acylcholin-Acyl-Hydrolase oder mit der Kennziffer E.C.3.1.1.8 ^{*} bezeichnet, wird im Schrifttum auch mit den Synonyma Butyrylcholinesterase, Serumcholinesterase, unspezifische Cholinesterase u.a. benannt, um sie gegen die "spezifische" Acetylcholinesterase abzugrenzen. Im Gegensatz zu dieser ist sie nämlich nicht sehr substratspezifisch, sondern spaltet außer einer Reihe von Cholinestern auch andere Ester.

Ein Acetylcholin spaltender Stoff wurde schon 1914 im Blut vermutet, in den zwanziger Jahren dieses Jahrhunderts die Vermutung untermauert und 1932 von STEDMAN et al. der Name "Cholinesterase" eingeführt (46). 1943 wird durch MENDEL und RUDNEY zwischen einer "Pseudocholinesterase" und der "wahren Cholinesterase" (Acetylcholinesterase) unterschieden (39).

Über die Synthese der Pseudocholinesterase in der Leber sind sich fast alle Autoren einig. Das Enzym soll in den Ribosomen des endoplasmatischen Retikulums (Paladegranula) produziert werden und ein Sekretenzym dieses Organs darstellen (14).

MAIER (37) stellte 1956 durch Untersuchungen von Rattenlebern fest, daß Zytoplasma, Mitochondrien und Mikrosomen der Leberzelle Cholinester zu spalten vermögen. Diese Cholinesterasen haben verschiedene Wirkungsbedingungen. Zwar enthalten die Mitochondrien besonders viel Enzym, doch scheint ihm die Cholinesterase des Zytoplasmas mit der des Serums identisch zu sein.

Die Pseudocholinesterase ist ein beim Menschen sehr eingehend untersuchtes Enzym, es ist das erste Serumenzym, über dessen genetische Kontrolle berichtet wird (10).

Die Pseudocholinesterase ist ein saures Glycoprotein, dessen aktivste Fraktion

^{*} Enzyme Commission

11 % Hexose enthält und dessen Molekulargewicht mit 300.000 angenommen wird (10, 32). In der Stärkegel-Elektrophorese wandert die Cholinesterase mit den α - und β - Globulinen. Die Enzymkonzentration im menschlichen Plasma beträgt normalerweise 7 mg/l. Dies entspricht einem Proteinanteil im Serum von 0.01 % (10, 30). Der isoelektrische Punkt des nativen Enzyms liegt bei pH 3,0. Völlig hemmbar ist die Cholinesterase durch 10^{-5} M Eserin (10).

Bei der Proteinaufspaltung des Enzyms erhält man Isoenzyme, die sämtlich enzymatisch aktiv sind, sich aber in Molekulargewicht und z.T. auch in ihrer elektrischen Ladung voneinander unterscheiden (31).

LaMOTTA et al. erhält 1970 durch Ultrazentrifugation 5 Isoenzyme, deren Molekulargewichte zwischen 82.000 - 5.260.000 variieren und die alle ineinander überführbar sind. LaMOTTA hält sie für molekulare Aggregate : da das Isoenzym mit dem kleinsten Molekulargewicht in das mit dem größten Molekulargewicht überführbar ist, muß es schon sämtliche Elemente des letzteren enthalten (33).

GAFFNEY (9) findet 1970 durch Gelelektrophorese ein Enzymsystem mit 7 Hauptkomponenten, deren 5 schnellste in der Größe variieren. Er spricht der N-Acetyl-Neuraminsäure, die den sauren Charakter des Enzyms ausmacht und z.B. der Pseudocholinesterase des Pferdes mit 34 Molekülen pro Enzymmolekül assoziiert ist, eine wesentliche Rolle für die Stabilisierung dieses Systems zu. Seiner Meinung nach erklärt sich die Affinität der Pseudocholinesterase zu langkettigen Hydrocarbon-Cholinestern aus der hydrophoben Natur des ungeladenen Proteinmoleküls, das von einer Hülle löslicher N-Acetyl-Neuraminsäure umgeben ist.

Die Lebensdauer des Enzymproteins geben VORHAUS et al. 1953 mit 28 Tagen an, da sie nach Hemmung des Enzyms in vivo mit Diisopropylfluorophosphat erst nach Ablauf dieser Zeit wieder Cholinesterase-Aktivität feststellen (52). JENKINS et al. messen 1967 bei einem Bantumädchen mit erblichem Cholinesterase-Mangel nach der Infusion menschlicher Pseudocholinesterase eine

Halbwertszeit von 10 Tagen (24).

Die physiologische Aufgabe der Cholinesterase ist weitgehend unbekannt. Es wird die Möglichkeit einer Schutzfunktion für die Acetylcholinesterase in Betracht gezogen (31; 36, 32), wofür sprechen könnte, daß HÄGGQUIST 1960 Pseudocholinesterase auch an Nervenendigungen in der Muskulatur nachwies, wenn auch wesentlich weniger als Acetylcholinesterase (16).

Möglicherweise besteht eine physiologische Aufgabe der Cholinesterase in der Abdichtung der Zellmembran gegenüber Natrium (10). MAYER MILSTOC findet 1970 bei rheumatischen Arthritiden in der entzündlich proliferierten Gelenkschmiere vermehrt Pseudocholinesterase und schließt daraus, daß sie an den Zellmembranen entweder als Antwort auf erhöhten Stoffwechselbedarf oder zur Änderung der Membranpermeabilität benötigt wird (38).

Eine Kopplung zwischen Cholinesterase-Aktivität und Fettstoffwechsel vermuten BERRY et al. und CLITHEROW. BERRY (3) erkennt 1954 eine hochsignifikant positive Korrelation zwischen Körperfett und Esteraseaktivität. CLITHEROW geht davon aus, daß das vorletzte Glied im Fettabbau sowie das erste in der Lipogenese die gleiche Anzahl C-Atome (Butyryl-CoA) besitzen. Wegen der toxischen Nicotinwirkung der hier entstehenden Cholinester sieht er als Hauptaufgabe der Pseudocholinesterase die Hydrolyse des Butyrylcholines. Er weist ferner darauf hin, daß STRELITZ (47) bei Pferden eine gleichsinnig jahreszeitliche Schwankung von Cholinesterase-Aktivität und Fettstoffwechsel - mit einem Maximum im Spätsommer - festgestellt hat (4).

Da die Pseudocholinesterase in der Leber gebildet wird, liegt es nahe, daß sich die klinische Enzymforschung mit den Veränderungen dieses Enzyms unter pathologischen Bedingungen beschäftigte. Interessierte zunächst die organspezifische Veränderung bei Lebererkrankungen, beachtete man auch die Änderung der Enzymaktivität bei Vorliegen anderer krankhafter Prozesse. Schon 1937 wurde von ANTOPOL, SCHIFRIN und TUCHMANN bei Lebererkrankungen eine

erniedrigte Cholinesterase-Aktivität festgestellt (1), welche Relation besteht aber überhaupt zwischen Cholinesterase und Krankheiten?

Übereinstimmend wird ein signifikantes Absinken der Cholinesterase-Aktivität bei schweren Leberparenchymschädigungen berichtet. Daraus geht der direkte Zusammenhang zwischen der Enzymproduktion und dem Funktionszustand der Leberzellen hervor. Besonders deutlich soll dieses Absinken der Cholinesterase-Aktivität bei Leberzirrhosen, Stauungsleber, Metastasenleber und chronischen Hepatitiden sein (13; 30; 37; 52; 53). Gleiche Folgen sollen maligne Tumoren, Urämie, auszehrende Erkrankungen und alimentärer Proteinmangel haben (18; 34; 51).

So berichtet HAMMER (18) von einer direkten Beziehung zwischen Malignität von Tumoren bei 250 Karzinomkranken und der Höhe ihrer Esterase-Aktivität. Zu gleichen Befunden gelangt er bei Ratte und Kaninchen mit Hilfe künstlich erzeugter Tumoren. Tumoren wirken seiner Meinung nach als "Stickstoff-Falle", wodurch es zu einer vegetativen Umschaltung des gesamten Organismus auf das trophotrope parasymphatische Nervensystem kommt, dem er maßgeblichen Einfluß auf die Cholinesterase-Aktivität zuschreibt.

Eine signifikante Erniedrigung der Enzymaktivität infolge Mangelernährung finden 1969 BEGUM und PRATHAPKUMAR (2) bei indischen Kindern. Deren bis auf 25 % reduzierte Cholinesterase-Aktivität konnte durch Proteinzufuhr und Vitamin A - Gaben wieder normalisiert werden. Auch STUR et al. schließen 1961 bei Neugeborenen auf Leberschädigung und Störung der Proteinsynthese, wenn in den ersten Tagen post partum die Aktivität der Serumcholinesterase absinkt (48).

Ein regelmäßiger Esterase"sturz" wird nach Operationen beobachtet (6; 23; 53). Er stellt sich meist zwischen dem 3. - 4. Tag post operationem ein und erreicht Minimalwerte bis zu 25 - 45 % der Ausgangsaktivität. Aus dem weiteren Verhalten der Cholinesterase-Aktivität können dann prognostische Schlüsse gezogen werden, da mit dem Genesungsprozess ein entsprechendes Ansteigen der

Enzymaktivität einhergehen soll. Auftretende Komplikationen kennzeichnen sich durch einen erneuten Esterasessturz, der bis zum Tod anhalten kann (6). Nach DOENICKE et al. soll die Ausgangslage der Cholinesterase-Aktivität vor der Operation eine Beurteilung der Operabilität des Patienten erlauben. Den günstigsten postoperativen Heilungsverlauf zeigen Patienten mit normaler Esteraseaktivität, während extrem hohe oder niedrige Ausgangswerte zur Vorsicht raten lassen. Daher wird eine praeoperative Behandlung dieser Patienten zur Normalisierung des Pseudocholinesterase-Spiegels empfohlen (6).

Ebenfalls depressiv wirken akute Entzündungen und Röntgenstrahlen auf die Serumcholinesterase. HOLLE erzeugt 1949 bei Versuchstieren mit einer subcutan injizierten Bakterienaufschwemmung konstant für etwa 36 Stunden eine Erniedrigung der Esteraseaktivität. Eine homologe Schwankung der Enzymaktivität beobachtet er nach örtlicher Einwirkung von Röntgenstrahlen (20 - 40r) mit dem maximalen Hemmeffekt nach etwa 6 - 12 Stunden. Durch örtliche Bestrahlung von entzündetem Gewebe kann die Hemmung der Esteraseaktivität beschleunigt und verstärkt werden (22).

Deutliches Ansteigen der Cholinesterase-Aktivität wird dagegen bei Nephrosen beobachtet (13, 37, 42, 52). VORHAUS und KARK nehmen an, daß durch Albuminverlust eine gesteigerte Proteinsynthese in der Leber induziert wird, die Serumcholinesterase wird jedoch wegen ihres höheren Molekulargewichtes nicht mit dem Harn ausgeschieden (52). Gegen eine solche Kopplung von Albuminsynthese und Cholinesterasesynthese wenden DIETZ et al. ein, daß bei Patienten mit Analbuminämie normale Cholinesterasewerte gefunden wurden. Auch ein Fehlen beider Proteine im Serum sage nur aus, daß die Leber zur Proteinsynthese an sich unfähig sei (5).

Bei anderen Erkrankungen wie Ikterus, Diabetes mellitus, Asthma, chronischen Entzündungen u.a. zeigen sich keine (52, 53) bzw. keine signifikanten Abweichungen von der Norm (32, 39). Da schon die Normwerte eine starke Streuung aufweisen, lassen sich oft keine eindeutigen Aussagen machen, auch wenn der Einzelwert schon im pathologischen Bereich liegt (53).

Eine ganz besondere Bedeutung hat die Bestimmung der Pseudocholinesterase im Hinblick auf die klinische Anwendung von Succinyldicholin.

Succinyldicholin (Suxamethonium, Pantolax^(R), Lysthenon^(R)) ist ein in der Medizin häufig benutztes, kurz wirkendes Muskelrelaxans vom depolarisierenden Typ. Es hat an der motorischen Endplatte die gleiche Wirkung wie Acetylcholin (21), kann aber dort wegen der mangelnden Affinität der Acetylcholinesterase zu Succinylcholin nicht hydrolysiert werden (13). Es wirkt auf das vegetative Nervensystem nur in hohen Dosen und hat keinen Einfluß auf das Bewußtsein (19).

Die unspezifische Pseudocholinesterase spaltet dagegen Succinyldicholin rasch in Cholin und Succinyl monocholin. Das Monocholin wird zwar wesentlich langsamer hydrolysiert (zu Cholin und Bernsteinsäure (7)), doch da es nur ca. 5 % der relaxierenden Wirkung von Succinyldicholin besitzt (36), kann seine Wirkung vernachlässigt werden.

Pseudocholinesterase ist jedoch in der Skelettmuskulatur nicht bzw. nur in unbedeutenden Spuren vorhanden (16). Die kurze Wirkungsdauer des Succinylcholins beruht also darauf, daß es nach der Injektion der schnellen Hydrolyse durch die Serumcholinesterase unterliegt und nur geringe Mengen an die motorischen Endplatten gelangen. Eine Nachschubmöglichkeit wirksamen Cholinesters aus dem Blut ist danach nicht mehr gegeben (13, 29, 28, 30). Das Nachlassen der Relaxation beruht dann auf dem Abdiffundieren des Succinylcholins von der motorischen Endplatte in die umliegenden Gewebe (13).

Bei Patienten mit herabgesetzter Cholinesterase-Aktivität gelangt jedoch das im Blut kreisende Succinylcholin weiter an die motorischen Endplatten. Durch das geringere Konzentrationsgefälle ist das Wegdiffundieren von den motorischen Endplatten erschwert und es stellt sich eine längerdauernde Apnoe ein. Kam es daher nach Applikation von Succinylcholin zu verlängerter Apnoe, hielt man das für eine Folge pathologisch bedingter Enzymdepression, bis KALOW (31) aufgrund verlängerter Apnoe bei zwei organisch gesunden psychiatrischen

Patienten, die für die Elektroschock-Therapie Succinylcholin erhalten hatten, nähere Untersuchungen anstellte. Bei beiden Patienten war nicht nur die Esteraseaktivität erniedrigt, sondern die Cholinesterase unterschied sich auch qualitativ vom normalen Enzym. Die geringere Substrataffinität war im Vergleich zum normalen Enzym je nach Substrat unterschiedlich vermindert, so daß man als Ursache eine genetisch bedingte Strukturänderung des Enzymmoleküls vermutete. KALOW u. Mitarbeiter fanden, daß man mit Dibucain (Percain, Nupercain), einem Lokalanaestheticum, die Pseudocholinesterase-Aktivität in vitro hemmen und nach der Intensität dieser Hemmung verschiedene Typen des Enzyms unterscheiden kann (25; 28). KALOW und LINDSAY standardisierten eine spektrophotometrische Methode zur Messung der Enzymaktivität mit Benzoylcholin als Substrat (27). Durch einen genau definierten Zusatz des Inhibitors Dibucain läßt sich diese Reaktion hemmen. Die photometrisch festgestellte Extinktionsdifferenz zwischen ungehemmter und gehemmter Reaktion drückt KALOW in Prozent der ungehemmten Reaktion aus und bezeichnet den Wert als "Dibucain-Zahl" (DN). Durch weitere Untersuchungen stellte er drei Gruppen verschiedener Dibucain-Zahlen fest. Die am häufigsten vorkommende "typische" Enzymvariante ist durch ihre starke Hemmbarkeit mit Dibucain, also durch Dibucainzahlen über 71, gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu verhält sich die "atypische" Enzymvariante resistent gegen Dibucain und ist durch Dibucain-Zahlen unter 30 gekennzeichnet. Der Bereich zwischen diesen beiden Gruppen wird von einer dritten, intermediären eingenommen.

Die Dibucain-Zahl eines Menschen ist konstant und drückt bei Vorliegen niedriger oder intermediärer Dibucain-Zahl den individuell verschiedenen Anteil atypischer Pseudocholinesterase aus. Sie ist unabhängig von Änderungen der Enzymaktivität. Wichtiges Merkmal der atypischen Enzymvariante ist ihre geringe Affinität zu Succinylcholin, die nur etwa $1/100$ der normalen beträgt (29). Daher reagieren Individuen mit dieser sehr selten rein auftretenden Enzymform (0,03 %) auf Succinylcholin mit so langer Apnoe, als sei bei ihnen kein Enzym vorhanden (30).

Es existiert also eine direkte Relation zwischen der Höhe der Dibucain-Zahl und der Succinylcholin-Empfindlichkeit (26).

Aus Untersuchungsergebnissen von Familien mit erhöhter Frequenz für niedrige und intermediäre Dibucain-Zahlen wird geschlossen, daß zwei autosomale, allele Gene ohne Dominanz für das Zustandekommen des Cholinesterase-Typs verantwortlich sind (28).

Seit der Entdeckung der atypischen Enzymvariante 1956 durch KALOW sind bisher noch weitere vier genetisch bedingte Varianten der Cholinesterase gefunden worden.

So berichten HARRIS und WHITTAKER (20) 1961 von einem Esterasetyp, der gegen den Hemmstoff Natriumfluorid resistent ist. Er verhält sich klinisch ähnlich wie die atypische Esterase (31).

Eine weitere Variante zeichnet sich dadurch aus, daß Homozygote für dieses Gen keine bzw. eine auf 2 - 8 % reduzierte Cholinesterase-Aktivität aufweisen (44). Diese fehlende Cholinesterase-Aktivität bedeutet nicht etwa, daß kein Enzym vorhanden ist. Das "silent gene" steuert anscheinend die Synthese eines Enzymproteins, das keine Cholinester spaltet und sich qualitativ vom normalen Enzym unterscheidet (12, 31). Mit der Frequenz 1:100.000 ist das "silent gene" sehr selten (14). GAFFNEY (9) nennt noch ein den vorgenannten alleles Gen, das eine mit n-Butanol hemmbare Enzym-Variante bedingen soll.

Schließlich sei noch die C_5^+ - Variante aufgeführt, die sich in der Stärkegel-Elektrophorese durch eine zusätzliche, aber weniger mobile Bande auszeichnet. Sie soll eine Steigerung der Cholinesterase-Aktivität um etwa 30 % bewirken. Da diese Komponente sowohl bei atypischen, intermediären und typischen Phänotypen gefunden wird, schließt man auf einen weiteren, von den bisher genannten Allelen unabhängigen Genlocus (43).

Es besteht also beim Menschen eine große Variabilität der Pseudocholinesterase auf genetischer Basis.

Bei Tieren ist die Pseudocholinesterase nicht so häufig untersucht worden, doch berichten MENDEL et al. (40) schon 1943 von unterschiedlicher Enzymaktivität bei verschiedenen Spezies. Nach GOEDDE und FUSS (11) nimmt die Esterase-Aktivität bei verschiedenen Spezies in dieser Reihenfolge ab:

Pferd	Hund	Katze	Ratte	Schwein	Hammel	Rind
28,38	28,24	14,44	3,59	3,05	2,96	1,28

Tab. 1 Darstellung der speziesspezifischen Pseudocholinesterase-Aktivität. Die unter den Spezies aufgeführten Zahlen geben die Enzymaktivität in % der menschlichen Cholinesterase-Aktivität wieder. Nach GOEDDE und FUSS (11)

Es gibt anscheinend für jede Spezies eine Pseudocholinesterase mit charakteristischer Substratspezifität; diese Speziesunterschiede sind wahrscheinlich auf Strukturunterschiede des Enzymproteins zurückzuführen (11).

DOENICKE et al. sowie FREY und MAGNUSSEN stellen fest, daß die Cholinesterase-Aktivität beim Pferd nur wenig und beim Hund etwa 30 - 40 % niedriger als beim Menschen ist (6; 8). Beide Tierarten reagieren jedoch sehr verschieden auf das Muskelrelaxans Succinylcholin. Während die Schwellendosis für einen neuromuskulären Block bei Mensch und Pferd mit 0,15 mg/kg gleich groß ist, genügen beim Hund schon 0,06 mg/kg (49). Hunde reagieren auf ein Fünftel der beim Menschen üblichen Dosis mit einer fünfmal so langen Apnoe (HALL et al. 1953). HALL stellt ebenfalls fest, daß Hunde nach Applikation menschlicher Pseudocholinesterase mit keiner bzw. um 70 % erniedrigter Apnoedauer auf die gleiche Dosis Succinylcholin reagieren (17). Es kommt also außer der Spezifität der Pseudocholinesterase keine andere Ursache für die Succinylcholinempfindlichkeit des Hundes in Frage.

Es lag daher nahe, den Typ der caninen Cholinesterase mit Hilfe der Dibucain-Zahl zu bestimmen. Beim Menschen liegt ja die Dibucain-Zahl für typisches Enzym bei über 71, bei Homozygoten für atypische Esterase unter 30 und beim intermediären Typ zwischen 45 - 70 (30).

DOENICKE et al. stellen 1962 fest, daß die Dibucain-Zahlen beim Hund in einem Bereich liegen, der dem atypischen bis intermediären Bereich beim Menschen entspricht. Für das Pferd finden sie hingegen hohe Dibucain-Zahlen (größer als 90), wodurch sich die Succinylcholintoleranz des Pferdes erklären läßt (6).

Bei weiteren Untersuchungen an Hunden in Dänemark stellen FREY und MAGNUSSEN 1966 Differenzen zu den Ergebnissen 1962 in Hannover sowohl für die Dibucain-Zahlen als auch die Cholinesterase-Aktivität fest (8). Es kommt also auch die Möglichkeit genetisch bedingter Unterschiede im Typ der caninen Cholinesterase in Betracht.

Da das bisher untersuchte inhomogene Hundematerial aus experimentell arbeitenden Instituten wenig geeignet zur Aufklärung genetischer Unterschiede erscheint (8), könnte eine Untersuchung der Serumcholinesterase bei den gut durchgezüchteten Hunderassen wegen der höheren Inzuchtquote deutlichere Aussagen machen. Möglicherweise lassen sich Hunde mit hoher Dibucain-Zahl und einer damit einhergehenden Succinylcholintoleranz finden. Da sich die Herkunft reinrassiger Hunde meist feststellen läßt, könnte durch nähere Untersuchung z.B. von Eltern, Wurfgeschwistern und Nachkommen ein Bereich der Pharmakogenetik in der Veterinärmedizin erschlossen werden.

Es war daher Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Dibucain-Zahl der Pseudo-cholinesterase im Serum reinrassiger Hunde zu bestimmen, um beim Auftreten hoher, für den Hund atypischer Dibucain-Zahlen genetische Grundlagen überprüfen zu können.

Gleichzeitig sollte untersucht werden, ob die Cholinesterase-Aktivität des Hundes von genetischen Faktoren oder Umwelteinflüssen abhängig ist und sich, wie beim Menschen, aus ihrem Verhalten diagnostische und prognostische Schlüsse ziehen lassen.

Methodik

Die Untersuchungen wurden an 529 Hunden durchgeführt. Nach Geschlecht aufgeteilt ergibt sich ein Verhältnis von 284 Rüden : 244 Hündinnen : 1 Zwitter.

Es wurde nur das Serum reinrassiger Hunde untersucht. Repräsentative Rassekollektive werden von Pudeln (118), Deutschen Schäferhunden (107), Teckeln (75), Spaniels (51) und Deutschen Boxern (40) dargestellt, während sich die restlichen 138 Hunde auf weitere 42 Rassen verteilen.

Die überwiegende Anzahl der Hunde rekrutiert sich aus Patienten der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin. Es handelt sich um Hunde, denen aus verschiedenen Gründen (Narkose, Therapie) intravenöse Injektionen gegeben wurden, oder deren Blut einer diagnostischen Untersuchung unterzogen werden sollte.

Das zur Untersuchung kommende Blut wurde nach Gerinnung bei ca. 4.000 U/min. zentrifugiert und anschließend sofort das Serum dekantiert.

Die Bestimmung der Pseudocholinesterase erfolgte immer mit frischem Serum, d.h. am Tag der Blutentnahme. In einigen Fällen wurde das zur Enzymbestimmung ebenso brauchbare Plasma (27) untersucht.

Da Hundeblut leicht zur Hämolyse neigt, wurde untersucht, ob die Bestimmung der Pseudocholinesterase durch eine Hämolyse beeinflusst wird. Mehrfache Untersuchung desselben Serums mit und ohne Hämolyse führte jedoch zu identischen Ergebnissen. Unbrauchbar waren dagegen oft lipämische Seren wegen ihrer starken Trübung.

Um den Einfluß von Medikamenten auf die Cholinesterase in vivo möglichst gering zu halten, wurde nur Serum von Hunden benutzt, die aller Wahrscheinlichkeit nach nicht vorbehandelt waren.

Die Bestimmung der Aktivität der Pseudocholinesterase sowie der Dibucain-Zahl erfolgte mit der photometrischen Methode von KALOW u. Mitarb. (25, 27).

Prinzip der Cholinesterase-Aktivitäts-Messung

Da Benzoylcholin als Substrat bei 240 nm seine größte Absorptionsfähigkeit zeigt, die Spaltprodukte jedoch nicht in Erscheinung treten, läßt sich die Hydrolyse durch die Serumcholinesterase photometrisch durch die Abnahme der Extinktion über die Zeit messen. Die Höhe der Extinktionsabnahme ist direkt proportional der Enzymaktivität als Ausdruck der hydrolysierten Substratmenge pro Zeiteinheit.

Unter definierten Testbedingungen wird die Extinktionsabnahme einer 5×10^{-5} - molaren Benzoylcholin-Chlorid-Lösung in einer bestimmten Esterase-Lösung (= Serumverdünnung) über die Dauer von 3 Minuten gemessen. Lösungs- bzw. Verdünnungsmedium ist M/15 Phosphatpuffer vom pH 7,4. Die Schichtdicke der als Meßbehälter dienenden Quarzküvette beträgt 10 mm.

Zur Berechnung der Enzymaktivität in μM Benzoylcholin/ml Serum/Stunde bei 37°C muß zunächst der Faktor zur Umrechnung der gewählten Serumverdünnung in natives Serum berücksichtigt werden. Eine Extinktionsabnahme von 0,165 entspricht der Hydrolyse von $0,025 \mu\text{M}$ Benzoylcholin. Der gefundene Wert muß mit dem Faktor der Serumverdünnung sowie dem Zeitfaktor 20 (um von 3 Minuten auf 1 Stunde zu kommen) multipliziert werden.

Da die Bestimmung der Aktivität bei Zimmertemperatur im Bereich von $21 - 25^\circ\text{C}$ stattfindet, wird direkt nach der Messung die Temperatur des Küvetteninhaltes bestimmt, um die gefundene Aktivität auf die Aktivität bei 26°C korrigieren zu können:

AKTIVITÄT bei 26°C

$$= \text{gefundene Aktivität} \times \text{antilog} \cdot (0,0283 \times (26-t))$$

Durch Multiplikation mit dem Faktor 1,74 kann die Aktivität bei 26°C in die Aktivität bei 37°C umgerechnet werden.

Bestimmung der Dibucain-Zahl

Die Bestimmung der Esterase-Aktivität wird mit zusätzlich in der Meßlösung enthaltenen 10^{-5} M des Inhibitors Dibucain wiederholt. Die Dibucain-Zahl versteht sich als prozentuale Abnahme der Extinktion bei Anwesenheit von Dibucain im Vergleich zur nicht inhibierten Reaktion:

$$\text{DN} = \% \text{ Inhibition} = 100 \times \left(1 - \frac{\text{Extinktionsdifferenz mit Dibucain-Zusatz}}{\text{Extinktionsdifferenz ohne Dibucain-Zusatz}} \right)$$

Durchführung der Versuche

Als Reagentien wurden verwendet:

Benzoylcholin-Chlorid	(Schuchardt/München; MG 243,74)
Percain-HCl (Dibucain)	(Ciba AG/Baden, MG 379,92)
Puffersubstanzen nach Sörensen	(E. Merck AG/Darmstadt)
I. Kaliumdihydrogenphosphat	(MG 136,09)
II. Dinatriumhydrogenphosphat	(MG 178,00)

Da Benzoylcholin-Chlorid stark hygroskopisch ist, mußte es im Exsikkator aufbewahrt werden.

Die Herstellung des M/15 Phosphatpuffers vom pH 7,4 erfolgte durch Mischung von M/15 KH_2PO_4 -Lösung mit M/15 Na_2HPO_4 -Lösung im Verhältnis 19,6 : 80,4.

Die Benzoylcholin-Chlorid-Lösung wurde als 2×10^{-3} M Stammlösung, die Dibucain-Lösung als 4×10^{-4} M Stammlösung mit destilliertem Wasser angesetzt.

Es konnte festgestellt werden, daß eine 2×10^{-3} M Benzoylcholin-Lösung bei Aufbewahrung im Kühlschrank ($4 - 6^\circ \text{C}$) über etwa 8 Tage keine Änderung ihrer optischen Dichte bei 240 nm anzeigt.

Die photometrische Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte im ZEISS-Spektr-

photometer PMQ II bei UV-Licht von der Wellenlänge 240 nm und einer Temperatur zwischen 21 - 25° C in Quarzküvetten von der Schichtdicke 1 cm.

Da die Pseudocholinesterase des Hundes meist eine merklich geringere Aktivität als die des Menschen besitzt, wurde die Serumverdünnung 1 : 50 gewählt, um den Ablesefehler an der Photometerskala möglichst klein zu halten.

Zur Bestimmung der Serumprobe wurde die Benzoylcholin-Gebrauchslösung durch Verdünnung der Stammlösung 1 : 20 mit Phosphatpuffer hergestellt. Zur Bestimmung der gehemmten Reaktion wurde eine Mischung 1 : 1 von Benzoylcholin-Stammlösung und Dibucain-Stammlösung, mit Phosphatpuffer 1 : 10 verdünnt, benötigt.

Die Messung der Aktivität und der Dibucain-Zahl erfolgte so, daß in drei Reagenzgläser je 2 ml der Serumverdünnung pipettiert wurden. In das erste (Leerwert) wurden zum Serum 2 ml Phosphatpuffer, in das zweite 2 ml der Benzoylcholin-Gebrauchslösung und in das dritte Reagenzglas 2 ml der Benzoylcholin/Dibucain-Gebrauchslösung hinzupipettiert. Nach Durchmischen und sofortigem Umfüllen in die Quarzküvetten wurde die Extinktionsabnahme über genau 3 Minuten verfolgt. Direkt anschließend wurde die Temperatur des Küvetteninhaltes durch Eintauchen eines Thermometers gemessen.

Als Kontrolle für korrekte Durchführung der Versuche dienten wiederholt Bestimmungen von Human- und Pferdeserum, deren Ergebnisse mit denen der Literatur übereinstimmen.

Die statistische Auswertung erfolgte zunächst durch Berechnung des Mittelwertes ($\bar{x}$) und der Streuung (Standardabweichung, s). Da die Dibucain-Zahlen normal verteilt waren (s. Abb. 1), wurde der Mittelwert und die Standardabweichung arithmetisch berechnet. Die Cholinesterase-Aktivitäten waren jedoch logarithmisch verteilt, weshalb hier der Geometrische Mittelwert und der Bereich der einfachen mittleren Abweichung (Standardabweichung) angegeben wird.

Die Kollektive wurden mit Hilfe des Student-Tests unter Verwendung der Mittelwerte und Standardabweichungen verglichen.

Ergebnisse

I. Der Cholinesterase - Typ

Die Untersuchung des Cholinesterase-Typs im Hundeserum ergab Dibucain-Zahlen im Bereich von 5 - 29 (Abb. 1). Eine Abhängigkeit der Dibucain-Zahlen von Rasse oder Geschlecht wurde nicht festgestellt, auch hatten andere Faktoren wie Alter, Nährzustand oder Krankheit keinen Einfluß auf die Höhe der Dibucain-Zahl.

Die geringen Rassedifferenzen, dargestellt in Tab. 2, sind statistisch nicht zu sichern.

Tab. 2 Verteilung der Dibucain-Zahl bei 529 Hunden, sowie ihre Verteilung bei 5 Hunderassen. Angegeben ist die Anzahl (n), der Arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$) und die Streuung (s).

	n	Dibucain - Zahl	
		$\bar{x}$	$\pm s$
Gesamtmaterial	529	16,9	4,2
Pudel	118	17,5	4,2
Dt. Schäferhund	107	16,3	4,5
Teckel	75	16,7	3,9
Dt. Boxer	40	16,4	3,6
Spaniel	51	17,0	3,9

Dem typischen oder intermediären Bereich der menschlichen Dibucain-Zahlen entsprechende Werte wurden nicht ermittelt.

II. Die Cholinesterase - Aktivität

Die Angaben über Aktivität der Pseudocholinesterase beziehen sich in der vorliegenden Untersuchung stets auf die Menge hydrolysierten Benzoylcholins/ml Serum/Stunde bei einer Temperatur von 37° C ($\mu\text{M}/\text{ml}/\text{h}$).

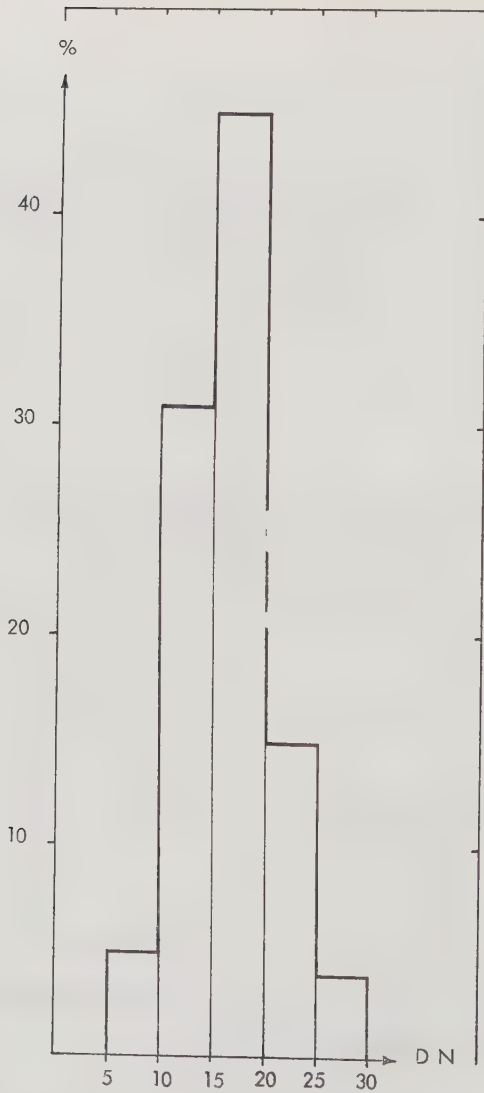


Abb.1

Prozentuale Verteilung der Dibucain-Zahl
(DN) bei 529 Hunden

a) Geschlechtsbedingte Differenzen

Sowohl das Gesamtmaterial als auch die einzelnen Rassen ließen stets zwischen Rüden und Hündinnen signifikante Unterschiede der Cholinesterase-Aktivität erkennen ($P < 0,01$) (Abb. 2 und 4). Wenn auch die Hündinnen mit mindestens $10 \mu\text{M/ml/h}$ (Pudel) über dem Enzymwert der Rüden liegen, schwankt diese Relation doch von Rasse zu Rasse und ist beim Deutschen Boxer und beim Deutschen Schäferhund mit einer Differenz von $24 \mu\text{M/ml/h}$ am deutlichsten ausgeprägt (s. Tab. 3).

Besonders deutlich ist die geschlechtsbedingte Differenz der Esterase-Aktivität unter der Voraussetzung gleichen Nährzustandes (s. Abb. 3).

Tab. 3 Verteilung der Cholinesterase-Aktivität bei 529 Hunden. Darstellung ihrer Beziehung zu Geschlecht und Rasse. Angegeben ist die Anzahl (n), der Geometrische Mittelwert ($\bar{x}$) und der Bereich der einfachen mittleren Abweichung (s-Bereich)

		n	Cholinesterase-Aktivität ($\mu\text{M/ml/h}$)	
			$\bar{x}$	s-Bereich
Gesamtmaterial		529	56	38 - 82
Gesamtmaterial	♂	284	49	34 - 69
Gesamtmaterial	♀	244	66	46 - 96
Pudel	♂	68	46	33 - 63
Pudel	♀	50	56	40 - 78
Deutscher Schäferhund	♂	64	43	31 - 61
Deutscher Schäferhund	♀	43	67	45 - 99
Teckel	♂	34	55	37 - 82
Teckel	♀	41	74	50 - 110
Dt. Boxer	♂	23	56	44 - 72
Dt. Boxer	♀	17	80	64 - 100
Spaniel	♂	22	47	35 - 61
Spaniel	♀	28	69	51 - 92

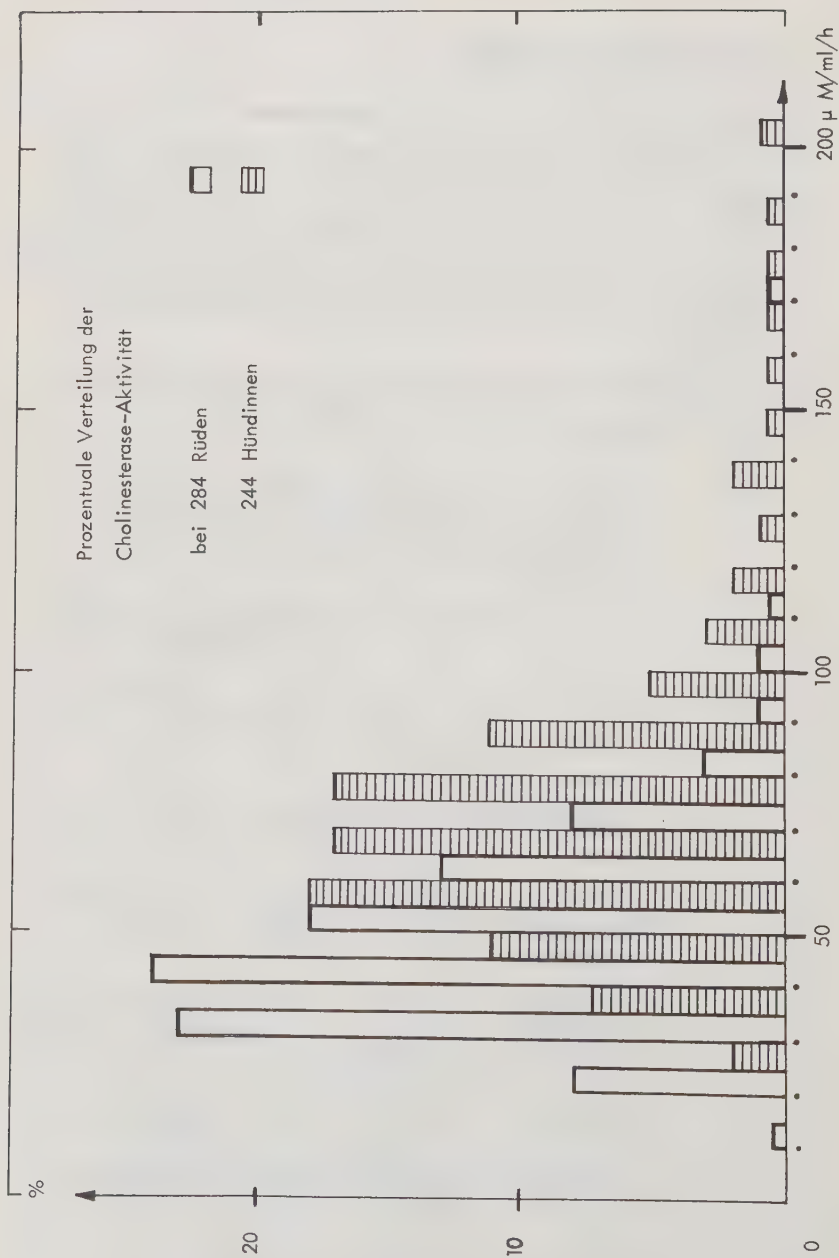


Abb. 2

Geschlechtsbedingte Differenzen der Cholinesterase-Aktivität bei 284 Rüden und 244 Hündinnen

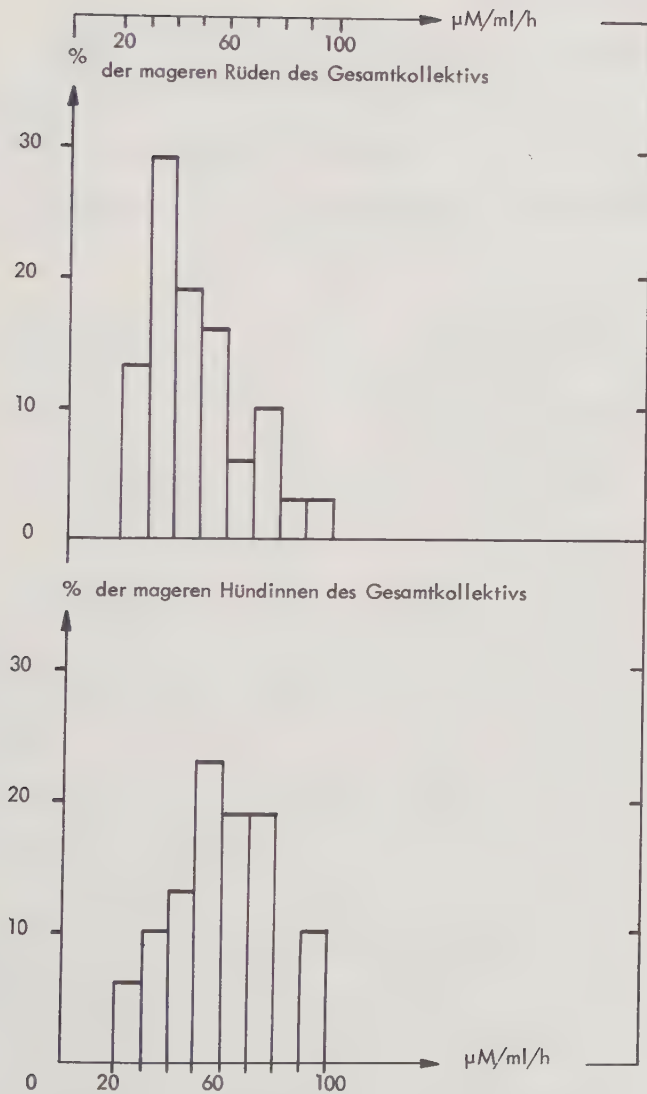


Abb. 3 Die geschlechtsbedingten Unterschiede der Esteraseaktivität zwischen den 31 mageren Hündinnen und den 31 mageren Rüden des Gesamtkollektivs

b) Rassebedingte Differenzen

Da es geschlechtsspezifische Unterschiede der Enzymaktivität gibt, können nur die Rüden bzw. die Hündinnen der einzelnen Rassen miteinander verglichen werden (s. Abb. 2 und 4). Die Signifikanzschranken für Rassedifferenzen sind jedoch bei den Hündinnen nicht dieselben wie bei den Rüden (s. Abb. 4).

Abb. 4 Darstellung der statistischen Signifikanz von Rasse- und Geschlechtsdifferenzen der Cholinesterase-Aktivität.

$P < 0,001$ (xxx), $P < 0,01$ (xx), $P < 0,05$ (x), $P > 0,05$ (0).

	Pudel		Schäferhund		Teckel		Boxer		Spaniel	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Pudel		xx	0		xx		xx		0	
	xx			x		xxx		xxx		xx
Schäferhund	0			xxx	xx		xxx		0	
		x	xxx			0		x		0
Teckel	xx		xx			xx	0		x	
		xxx			xx			0		0
Boxer	xx		xxx		0			xxx	xx	
		xxx		x		0	xxx			x
Spaniel	0		0		x		xx			xxx
		xx		0		0		x	xxx	

c) Durch das Lebensalter bedingte Differenzen

Bei Unterteilung nach dem Lebensalter in 5 Altersgruppen ergeben sich die in Tabelle 4 aufgeführten Verteilungen der Cholinesterase-Aktivität.

Tab. 4 Einfluß des Lebensalters auf die Verteilung der Enzymaktivität. Angegeben sind die Anzahl der Tiere (n), der Geometrische Mittelwert ($\bar{x}$) und der Bereich der einfachen mittleren Abweichung (s-Bereich)

Altersabschnitt	n	Esterase-Aktivität in $\mu\text{M} / \text{ml} / \text{h}$	
		$\bar{x}$	s-Bereich
bis 1 Jahr	69	49	36 - 66
1 bis 3 Jahre	80	52	37 - 72
3 bis 6 Jahre	119	53	36 - 77
6 bis 10 Jahre	166	61	39 - 93
über 10 Jahre	94	62	42 - 92

Signifikante Unterschiede der Cholinesterase-Aktivität lassen sich statistisch nur zwischen Hunden unter 6 Jahren und den über 6-jährigen Tieren sichern (s. Tab. 5).

Tab. 5 Statistischer Vergleich der Pseudocholinesterase-Aktivität zwischen den verschiedenen Altersgruppen.

$P < 0,001$ (xxx), $P < 0,01$ (xx), $P > 0,05$ (0)

Altersgruppe	<1 J	1 - 3 J	3 - 6 J	6 - 10 J	>10 J
bis 1 Jahr	-	0	0	xxx	xxx
1 - 3 Jahre	0	-	0	xx	xx
3 - 6 Jahre	0	0	-	xx	xx
6 - 10 Jahre	xxx	xx	xx	-	0
10 Jahre	xxx	xx	xx	0	-

d) Durch den Nährzustand bedingte Differenzen

Um eine Abhängigkeit der Cholinesterase-Aktivität vom Nährzustand ermitteln zu können, war nach dem Augenschein zwischen mageren, gut ("normal") genährten und adipösen Tieren unterschieden worden. Um diesen Einfluß des Nährzustandes klar herauszustellen, werden Tiere mit vergleichbarem Lebensalter (s. Tab. 6), vergleichbarem Gesundheitszustand (s. Tab. 6) und gleichem Geschlecht (s. Abb. 5), aber jeweils unterschiedlichem Nährzustand verglichen.

Tab. 6 Verteilung der Cholinesterase-Aktivität unter Berücksichtigung des Nährzustandes. Angegeben ist die Anzahl der Tiere (n), der Geometrische Mittelwert der Esteraseaktivität ($\bar{x}$), der Bereich der einfachen mittleren Abweichung (s- Bereich) und der Wahrscheinlichkeitswert $\underline{P}$ für Differenzen der Esteraseaktivität

Gruppierung	n	Esterase-Aktivität in $\mu\text{M} / \text{ml} / \text{h}$ $\bar{x}$ s-Bereich		$\underline{P}$
Magere Hunde	63	51	35 - 77	< 0,01
Adipöse Hunde	181	66	34 - 128	
Gut genährte Hunde	278	52	31 - 87	< 0,001
<u>Altersgruppe 6 - 10 Jahre</u>				
Magere/gut genährte Hunde	86	53	35 - 79	< 0,001
Adipöse Hunde	77	70	47 - 104	
<u>Gesundheitszustand</u>				
Klin. gesunde adipöse Hunde	49	60	45 - 79	< 0,01
Klin. gesunde Hunde (gesamt)	176	52	38 - 72	
Magere/gut genährte Hündinnen mit Mammatumoren	18	71	49 - 104	< 0,05
Adipöse Hündinnen mit Mamma- tumoren	22	90	63 - 127	
Magere/gut genährte Rüden mit Tumoren	25	55	37 - 82	> 0,05
Adipöse Rüden mit Tumoren	18	60	44 - 83	

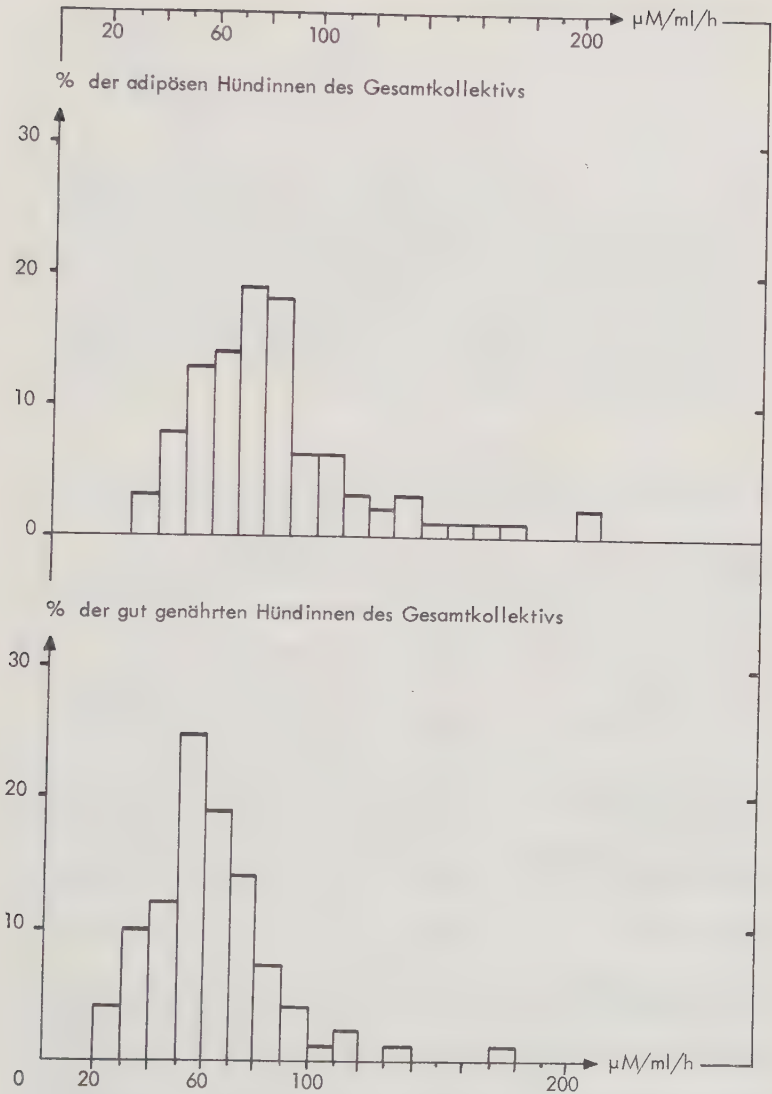


Abb. 5 Prozentuale Verteilung der Cholinesterase-Aktivität bei den je 106 gut genährten und adipösen Hündinnen des Gesamtkollektivs

e) Pathologisch bedingte Differenzen

Um den Einfluß von Krankheiten auf die Cholinesterase-Aktivität zu prüfen, wurden Differenzen der Enzymaktivität zwischen Tieren mit verschiedenen, diagnostisch einigermaßen gesicherten Krankheitsbildern untersucht.

Tab. 7 Verteilung der Cholinesterase-Aktivität unter Berücksichtigung klinischer Aspekte. Angegeben ist die Anzahl (n), der Geometrische Mittelwert der Enzymaktivität ($\bar{x}$), der Bereich der einfachen mittleren Abweichung (s-Bereich) und der Wahrscheinlichkeitswert $\underline{P}$ für Differenzen der Esterase-aktivität. Die in Klammern aufgeführten Werte (P) beziehen sich auf den Vergleich mit dem entsprechenden gesunden Kollektiv

Klinischer Aspekt	n	Esterase-Aktivität in $\mu\text{M} / \text{ml} / \text{h}$ $\bar{x}$ s-Bereich		$\underline{P}$
Klin. gesunde Hunde	176	52	38 - 72	} < 0,001
Klin. gesunde Rüden	94	48	35 - 64	
Klin. gesunde Hündinnen	82	59	43 - 79	
Hunde mit chronischen inneren Krankheiten	27	51	37 - 69	(> 0,05)
Hunde mit Tumoren (ausgenommen Mammatumoren)	71	62	41 - 94	(< 0,001)
Rüden mit Tumoren	43	57	40 - 82	(< 0,01)
Hündinnen mit Tumoren (ausgen. Mammatumoren)	28	73	46 - 115	} (< 0,01) > 0,05 (< 0,001)
Hündinnen mit Mammatumoren	40	80	55 - 117	
Hündinnen mit Pyometra	15	75	50 - 116	(< 0,01)

DISKUSSION

1. Typ der Pseudocholinesterase

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchung geht hervor, daß die Dibucain-Zahlen der überprüften Hundeseren im Bereich der für den Menschen atypischen Enzymvariante liegen. Ähnlich niedrige Dibucain-Zahlen kommen beim Menschen durch die homozygote Erbanlage für dibucainresistentes Enzym oder durch Verbindung der Allele "Dibucain-Resistenz" und "silent gene" (heterozygot) zustande. Beide Phänotypen sind durch sehr niedrige Esterase-Aktivität gekennzeichnet (12).

Es erscheint nicht verwunderlich, daß bei der Untersuchung der Hundeseren keine für den Hund atypischen hohen Dibucain-Zahlen gefunden wurden, da beim Menschen die atypische niedrige Dibucain-Zahl nur 1 : 3.000 zu finden ist. Setzt man jedoch beim Hund eine gleich hohe Gen-Frequenz voraus, müßte die beim Menschen mit ca. 4 % vertretene intermediäre Dibucain-Zahl als heterozygote Variante in Erscheinung treten. Hier können aber beim Hund völlig andere Voraussetzungen zutreffen, zumal bei der hohen Inzuchtquote der Hunderassen ein Gen regional verschieden häufig angetroffen werden kann. So werden z.B. beim Menschen rassebedingte Unterschiede insofern festgestellt, als bei Japanern, Bewohnern der Osterinseln und Thailändern keine Anzeichen für das Vorkommen der atypischen Enzymvariante gefunden werden, während das sehr seltene "silent gene" bei Eskimos häufiger als in anderen Bevölkerungen auftritt (15, 43).

Es kann also aus den vorliegenden Ergebnissen nicht geschlossen werden, daß es beim Hund keine atypische Enzymvariante mit entsprechend hoher Dibucain-Zahl gibt, sondern nur, daß sie in der Westberliner Hundpopulation zumindest sehr selten ist.

Aus dem Vergleich von drei verschiedenen Untersuchungsreihen läßt sich die Möglichkeit genetisch bedingter Unterschiede des Pseudocholinesterase-Typs bei Hunden ablesen:

Tab. 8

Stichprobe	(Lit.)	n	Cholinesterase Aktivität ($\mu\text{M} / \text{ml} / \text{h}$)	Dibucain-Zahl
Hannover	(6)	20	63 (42 - 97)	26 ¹⁾ (15 - 45)
Ballerup Dänemark	(8)	80	59 (45 - 77)	11 ¹⁾ (6 - 20)
Berlin		529	56 (38 - 82)	17 ²⁾ ($\pm$ 4)

1) Geometrischer Mittelwert

2) Arithmetischer Mittelwert

Tab. 8:

Serumcholinesterase-Aktivität und Dibucain-Zahl bei Hunden mehrerer Stichproben. Angegeben ist der Mittelwert und in Klammern der Bereich der einfachen mittleren Abweichung

Auch wenn die Bestimmung der Dibucain-Zahl beim Hund infolge der niedrigen Cholinesterase-Aktivität nicht sehr genau ist und sich der Fehler der Bestimmung etwa mit dem Bereich der einfachen Streuung deckt, konnte durch mehrfache Bestimmung desselben Serums festgestellt werden, daß sich z.B. eine Dibucain-Zahl zwischen 5 - 10 deutlich reproduzierbar von einer Dibucain-Zahl zwischen 20 - 30 unterscheiden läßt.

Diese Tatsache deutet auf einen qualitativen Unterschied der Pseudocholinesterase bei einzelnen Hunden hin, der bei Annahme einer genetischen Basis ein individueller, nicht etwa rassebedingter Faktor sein dürfte, da gleiche Differenzen bei allen untersuchten Rassen anzutreffen waren.

II. Cholinesterase-Aktivität

Die in dieser Untersuchung festgestellte durchschnittliche Aktivität der Pseudocholinesterase des Hundes in der Höhe von $56 \mu\text{M}$ Benzoylcholin/ml Serum/ Stunde bei 37°C stimmt recht gut mit den bisher ermittelten Werten (6; 8) überein. Die vorliegenden Ergebnisse lassen jedoch erkennen, daß die Cholinesterase-Aktivität keine konstante Höhe aufweist, sondern anscheinend von verschiedenen Faktoren beeinflußt wird.

Faktoren, die in wechselnder Kombination miteinander deutlich die Aktivität der Pseudocholinesterase bestimmen, sind

1. Für das Individuum unabänderliche Faktoren

- a) Geschlecht
 - b) Rasse - Zugehörigkeit
 - c) Lebensalter
- und

2. Variable Faktoren

- a) Nährzustand
- b) Krankheit

Sehr deutlich ist der regelmäßig anzutreffende, geschlechtsbedingte Unterschied der Enzymaktivität. Diese ist stets bei Hündinnen signifikant höher als bei Rüden, wenn auch unterschiedlich bei den einzelnen Rassen. So besitzen beispielsweise Pudelhündinnen eine um 22 % höhere Esterase-Aktivität als Pudelrüden, während der Unterschied beim Schäferhund 56 % beträgt. Geschlechtsbedingte Differenzen werden auch von der Cholinesterase-Aktivität des Menschen berichtet, doch ist hier der Esterase-Spiegel bei weiblichen Individuen niedriger als bei männlichen (30). Aus Untersuchungen von VACCARAZZA et al. (51) geht hervor, daß gesunde Frauen eine um etwa

14 % niedrigere Esterase-Aktivität als gesunde Männer aufweisen.

Verantwortlich für diese Differenzen mögen die unterschiedlichen Sexualhormone sein. LANGECKER (35) hält die Einflußnahme von Sexualhormonen auf den Enzymbestand der tierischen Zelle für möglich in dem Sinn, daß "für bestimmte Enzyme in bestimmten Organen geschlechtsgebundene Enzymmuster auftreten". Eine allgemeine Gesetzmäßigkeit soll sich daraus jedoch nicht ableiten lassen.

Wegen der angeführten erheblichen Geschlechtsdifferenzen können die einzelnen Rassen bezüglich ihrer Cholinesterase-Aktivität nur nach Hündinnen und Rüden getrennt beurteilt werden. Dann ergeben sich jedoch die in Tab. 3 und Abb. 4 zusammengestellten rassebedingten Unterschiede.

Unter Berücksichtigung des Lebensalters als differenzierender Faktor der Cholinesterase-Aktivität läßt sich eine altersbedingte Änderung nur zwischen den Hunden im Alter bis 6 Jahre und darüber über 6-jährigen statistisch sichern. Man kann eine mit fortgeschrittenem Alter erhöhte Enzymaktivität bemerken, während sie im Gegensatz dazu beim Menschen mit dem Alterungsprozeß abnimmt (30).

Eine entscheidende Rolle für die Höhe der Cholinesterase-Aktivität scheint der Nährzustand zu spielen. Zwar besteht zwischen mageren und "normal" genährten Tieren kein nennenswerter Unterschied ($P > 0,4$), doch findet sich bei adipösen Tieren eine deutliche Erhöhung der Enzymaktivität im Verhältnis zu mageren und gut genährten Hunden ($P < 0,01$). Entsprechende Befunde sind auch für den Menschen bekannt (30). BERRY et al. findet 1954 bei der Untersuchung des Serums von 345 gesunden Männern verschiedenen Alters und verschiedener Herkunft eine "hochsignifikant positive" Korrelation zwischen Körperfett und Pseudocholinesterase-Aktivität (3).

Da die Pseudocholinesterase ein Sekretenzym der Leber ist (14) und sich der Lipidmetabolismus überwiegend in diesem Organ abspielt, liegt die Annahme eines Zusammenhanges zwischen der Cholinesterase und dem Fettstoffwechsel

nahe. Näheres ist über eine solche Funktion nicht bekannt; möglicherweise liegt hier eine Funktion des Enzyms in der von CLITHEROW et al. postulierten notwendigen Hydrolyse der beim Lipidmetabolismus entstehenden toxischen Cholinester (4).

Die Feststellung einer Änderung der Cholinesterase-Aktivität im Gefolge von Krankheiten dürfte wegen der Möglichkeit einer diagnostischen Auswertung besonders interessant sein. Für den Menschen ist bekannt, daß die Enzymaktivität bei schweren Erkrankungen, besonders bei Leberparenchymschädigung und malignen Tumoren (18; 37; 53) auffällig erniedrigt, dagegen bei Nephrosen stark erhöht ist (37; 42). Andere Erkrankungen verlaufen dagegen ohne erkennbare Änderungen der Esterase-Aktivität.

In der vorliegenden Untersuchung konnten auch für den Hund Änderungen der Cholinesterase-Aktivität im Gefolge von Krankheiten festgestellt werden, doch stehen sie mehr oder weniger im Widerspruch zu den Befunden am Menschen.

Schwerwiegende Erkrankungen verursachen anscheinend keine auffällige Erniedrigung der Esterase-Aktivität. Diese unterscheidet sich in Serien von Tieren mit schwerer chronischer Enteritis, Urämie, Nephritis, Diabetes u.a. keineswegs von der Enzymaktivität klinisch gesunder Hunde. Ein 6 Monate alter kachektischer Schäferhundrüde, der im Endstadium der nervösen Staupe getötet wurde, besaß eine für Schäferhundrüden und auch für gesunde Rüden im Normalbereich liegende Aktivität von 35 μ M Benzoylcholin/ml Serum/ Stunde; dagegen wurde die niedrigste Aktivität des Enzyms bei einem organisch gesunden Schäferhundrüden (Bursitis-Operation), 6 Jahre alt, mit 18 μ M/ml/h festgestellt.

Eine erheblich erhöhte Enzymaktivität läßt sich jedoch bei Vorliegen von Tumoren, besonders Mammatumoren, sowie bei Pyometra finden. Unter dem Begriff "Tumoren" sind hier, mit Ausnahme der gesondert aufgeführten Mammatumoren, alle diagnostizierten Geschwülste einschließlich Leukosen zusammengefaßt.

Als Deutung für die veränderte Esterase-Aktivität in Verbindung mit Mammatumoren und Pyometren ist eine hormonelle Dysfunktion mit erhöhter Östrogen-Inkretion diskutabel, die als gemeinsame Ursache beider Krankheiten des Hundes in Betracht kommt (41; 45; 50). Hierfür würde auch die mit $108 \mu\text{M}/\text{ml}/\text{h}$ recht hohe Esterase-Aktivität bei einem 11-jährigen Kerry blue-Rüden sprechen, der wegen der Applikation von Depot-Östrogen behandelt werden mußte.

Keine Erklärung läßt sich jedoch für die signifikant erhöhte Esterase-Aktivität bei Hündinnen und auch Rüden mit anderen Tumoren finden. Man könnte in Betracht ziehen, daß Tumoren häufiger bei älteren Tieren mit Neigung zur Adiposität zu finden sind und den Nährzustand für die erhöhte Enzymaktivität verantwortlich machen. Dem widerspricht aber die höhere Esterase-Aktivität der mageren Rüden mit Tumoren gegenüber der von gesunden Rüden.

Die Befunde dieser Untersuchung deuten darauf hin, daß Änderungen der Cholinesterase-Aktivität beim Hund in einer Erhöhung der Enzymaktivität zu finden sind. Bei Kombination aller hierfür in Frage kommenden Faktoren müßten maximale Esterasewerte bei älteren, adipösen Hündinnen mit Mammatumoren zu finden sein. Tatsächlich wurden die höchsten Esterase-Aktivitäten mit 209 bzw. $210 \mu\text{M}/\text{ml}/\text{h}$ bei zwei 10-jährigen, sehr adipösen Teckelhündinnen festgestellt, die wegen Mammatumoren bzw. Pyometra operiert wurden.

Die für Hündinnen geschlechtsbedingt erhöhte Enzymaktivität ist sicher nicht durch das häufigere Auftreten von Krankheiten, die mit Erhöhung der Esterase-aktivität einhergehen, bedingt. Das zeigt der Vergleich der gesunden Rüden mit den gesunden Hündinnen (s. Tab. 7). Bei Hündinnen muß jedoch ein Einfluß des Nährzustandes auf die Esteraseaktivität wegen des stärker ausgeprägten Fettansatzes bei weiblichen Individuen in Betracht gezogen werden.

Ein Vergleich der mageren Rüden mit den mageren Hündinnen (s. Abb. 3) läßt jedoch auch bei gleichem Nährzustand einen deutlichen geschlechtsbedingten Unterschied der Esteraseaktivität erkennen.

Ebenfalls ganz unbestreitbar ist stets der Einfluß des Nährzustandes auf die Cholinesterase-Aktivität. Unter Ausschluß des geschlechtsbedingten Einflusses läßt sich deutlich zwischen den gut genährten und den adipösen Hündinnen des Gesamtkollektivs (s. Abb. 4) unterscheiden. Bei weitergehender Berücksichtigung auch von Krankheiten, die zu erhöhter Esteraseaktivität führen, sei auf die signifikante Differenz zwischen adipösen Hündinnen mit Mammatumoren und den weniger fetten Tieren mit Mammatumoren (s. Tab. 7) verwiesen.

Das unterschiedliche Fettansatzvermögen könnte als Erklärung für rassebedingte Differenzen der Cholinesterase-Aktivität dienen. Es variiert nämlich der prozentuale Anteil adipöser Tiere bei den einzelnen Rassen mit 23 % bei den Pudeln bis zu 44 % bei den Teckeln. Es gilt aber andererseits die Einschränkung, daß der Anteil adipöser Tiere beim Schäferhund mit 40 % über dem der Boxer (35 %) und dem der Spaniels (33 %) liegt, die durchschnittliche Cholinesterase-Aktivität des Schäferhundes aber niedriger als die der beiden letztgenannten Rassen ist. Es existieren also auch rassebedingte Differenzen der Esteraseaktivität.

Die altersabhängige Änderung der Enzymaktivität muß schließlich unter der Berücksichtigung der anderen Einflüsse als sekundär beurteilt werden. Erst bei den über 6-jährigen Tieren steigt die Esterase-Aktivität statistisch sicherbar an. Für Tiere in diesem Alter ist aber ein erhöhter Anteil adipöser Individuen und eine erhöhte Neigung zu Tumoren wie auch zu hormonellen Dysfunktionen zu bedenken.

Es existieren also mehrere Faktoren mit Einfluß auf die Aktivität der Pseudocholinesterase des Hundes, deren Vielfalt die relativ großen Streuungsbereiche der Mittelwerte erklären mag.

Die Differenzen der Cholinesterase-Aktivität in Abhängigkeit von Geschlecht, Krankheit und sekundär vom Alter, stimmen nicht mit den vom Menschen bekannten Befunden überein. Einzig der Nährzustand übt einen gleichgerichteten

Einfluß aus. Eine klinische Beurteilung von Änderungen der Esterase-Aktivität darf also für den Hund keinesfalls mit den Kriterien der Medizin erfolgen.

Eine Bewertung der diagnostischen Aussage von Änderungen der Cholinesterase-Aktivität kann mit den hier erhobenen Befunden nicht durchgeführt werden.

Es muß einer klinischen Untersuchung vorbehalten bleiben, bei Vorliegen völlig gesicherter Diagnosen ein Urteil über die diagnostische und prognostische Aussagekraft dieser an sich wenig aufwendigen Untersuchungsmethode zu sprechen.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird die Dibucain-Zahl und die Aktivität der Pseudocholinesterase im Serum von 529 reinrassigen Hunden untersucht.

Die Dibucain-Zahlen liegen sämtlich in dem für den Hund bekannten Bereich unter $DN=30$ mit einem Durchschnittswert von $DN=17$. Für den Hund atypisch hohe Dibucain-Zahlen traten nicht auf.

Die durchschnittliche Aktivität der Cholinesterase beträgt für den Hund $56 \mu M$ Benzoylcholin/ml Serum/Stunde. Es werden jedoch verschiedene Faktoren festgestellt, die die Höhe der Enzymaktivität beeinflussen.

- a) Hündinnen besitzen mit durchschnittlich 66 gegenüber $49 \mu M/ml/h$ eine höhere Enzymaktivität als Rüden.
- b) Rassebedingte Differenzen der Cholinesterase-Aktivität werden nachgewiesen.
- c) Im Gegensatz zum Menschen nimmt die Esterase-Aktivität mit dem Lebensalter zu. Dies dürfte aber ebenso wie beim Menschen Folge anderer determinierender Faktoren und somit sekundär sein.
- d) Ebenso wie beim Menschen ist die Höhe der Pseudocholinesterase-Aktivität positiv korreliert mit dem Nährzustand.
- e) Pathologische Veränderungen der Esterase-Aktivität sind bei Vorliegen von Pyometra und Tumoren, besonders bei Mammatumoren in einer deutlichen Erhöhung der Enzymaktivität zu bemerken. Ein Absinken der Cholinesterase-Aktivität unter dem Einfluß chronisch auszehrender Krankheiten wie beim Menschen wurde beim Hund nicht festgestellt.

LITERATUR

- 1) ANTOPOL, W.A., A. SCHIFRIN and L. TUCHMANN
Decreased choline-esterase activity of serum in jaundice and
in biliary disease
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 38 : 363 (1938)
- 2) BEGUM, A. and J. PRATHAPKUMAR
Effect of vitamin A on cholinesterase activity in normal
children and in children with protein-calorie malnutrition
Clin. chim. Acta 26 : 343 (1969)
- 3) BERRY, W.T.C., P.J. COWIN and D.R. DAVIES
A relationship between body fat and plasma pseudo-
cholinesterase
Brit. J. Nutr. 8 : 79 (1954)
- 4) CLITHEROW, J.W., M. MITCHAL and N.J. HARPER
The possible biological function of pseudocholin-
esterase
Nature (Lond.) 199 : 1000 (1963)
- 5) DIETZ, A.A., H.M. RUBINSTEIN and T. LOUBRANO
Serumcholinesterase in analbuminemia
Clin. Chem. 12 : 25 (1966)
- 6) DOENICKE, A., F. HOLLE und H.- H. FREY
Praktische Bedeutung der Plasmacholinesterase-
Bestimmung und ihres atypischen Verhaltens ge-
genüber Succinylbischolin
Anaesthesist 11 : 146 (1962)

- 7) FRASER, P.J.
Acceleration of the enzymic hydrolysis of benzoylcholine
Brit. J. Pharmacol. 11 : 7 (1956)
- 8) FREY, H.-H. und M.P. MAGNUSSEN
Serumcholinesterase und Succinylcholin-Empfindlichkeit
beim Hund
Dtsch. tierärztl. Wschr. 73 : 229 (1966)
- 9) GAFFNEY, P.J.
Human serum cholinesterase
I. Partial purification and nature of the heterogeneity
of this system
Biochim. biophys. Acta 207 : 465 (1970)
- 10) GOEDDE, H.W., A. DOENICKE und K. ALTLAND
Pseudocholinesterasen
Pharmakogenetik - Biochemie - Klinik
S. III und S. 3 - 13
Springer-Verlag Berlin - Heidelberg - New York 1967
- 11) GOEDDE, H.W. und W. FUSS
Untersuchungen zur Phylogenetik der Pseudocholin-
esterasen
Humangenetik 1 : 126 (1964)
- 12) GOEDDE, H.W., D. GEHRING und R.A. HOFMANN
Biochemische Untersuchungen zur Frage der Existenz
eines "silent gene" im Polymorphismus der Pseudo-
cholinesterasen
Humangenetik 1 : 607 (1965)
- 13) GOEDDE, H.W., K. ALTLAND und K. BROSS
Genetik und Biochemie der Pseudocholinesterasen
Dtsch. med. Wschr. 88 : 2510 (1963)

- 14) GÜRTNER, Th. und F. HOLLE
Über neuere Erkenntnisse der Hepatologie und ihre Bedeutung
für die Leberdiagnostik in der Chirurgie
Langenbecks Arch. klin. Chir. 309 : 224 (1965)
- 15) GUTSCHE, B.B., E.M. SCOTT and R.C. WRIGHT
Hereditary deficiency of pseudocholinesterase in Eskimos
Nature (Lond.) 215 : 322 (1967)
- 16) HÄGGQUIST, G.
Cholinesterases and innervation of skeletal muscles
Acta physiol. scand. 48 : 63 (1960)
- 17) HALL, L.W., H. LEHMANN and E. SILK
Response in dogs to relaxants derived from succinic
acid and cholin
Brit. med. J. 1953, I : 134
- 18) HAMMER, O.
Die Bedeutung der Serum-Cholinesterase beim
Karzinom-Kranken
Ärztl. Forsch. 15 : 381 (1961)
- 19) HANSSON, C.-H. och E. EDLUND
Experimentella undersökningar och kliniska
erfarenheter af succinylcholinjodid (celocurin)
ur veterinärmedicinsk synpunkt
Nord. Vet.-Med. 6 : 671 (1954)
- 20) HARRIS, H. and M. WHITTAKER
Differential inhibition of human serum cholinesterase
with fluoride: Recognition of two new phenotypes
Nature (Lond.) 191 : 496 (1961)

- 21) HENATSCH, H.D. und F.J. SCHULTE
Wirkungsmechanismen von Acetylcholin und Succinyl-
cholin auf die Muskelspindeln des Frosches
Pflügers Arch. ges. Physiol. 265 : 440 (1958)
- 22) HOLLE, F.
Studien über das Verhalten der Serum-Cholinesterase-
aktivität bei der Entzündung und Röntgenbestrahlung
Z. ges. exp. Med. 115 : 107 (1949)
- 23) HOLLE, F., K.H. STAHM und W. TEUFEL
Die Bedeutung der Serum-Cholinesterasebestimmung für
Chirurgie und Anaesthetie
Anaesthesist 3 : 113 (1954)
- 24) JENKINS, T., D. BALINSKY and D.W. PATIENT
Cholinesterase in plasma : first reported absence in
the Bantu; half life determination
Science 156 : 1748 (1967)
- 25) KALOW, W. and K. GENEST
A method for the detection of atypical forms of human
serum cholinesterase. Determination of Dibucain-Numbers
Canad. J. Biochem. 35 : 339 (1957)
- 26) KALOW, W. and D.R. GUNN
The relation between dose of succinylcholin and duration
of apnea in man
J. Pharmacol. exp. Ther. 120 : 203 (1957)
- 27) KALOW, W. and H.A. LINDSAY
A comparison of optical and manometric methods for the
assay of human serum cholinesterase
Canad. J. Biochem. 33 : 568 (1955)

- 28) KALOW, W. and N. STARON
On distribution and inheritance of atypical forms of
human serum cholinesterase, as indicated by Dibucain
Numbers
Canad. J. Biochem. 35 : 1305 (1957)
- 29) KALOW, W.
The distribution, destruction and elimination of muscle
relaxants
Anaesthesiology 20 : 505 (1959)
- 30) KALOW, W.
Pharmacogenetics
Heredity and the response to drugs : S. 69
(Heritable factors recognized in man by the use of drugs)
W.B. Saunders Co., Philadelphia - London 1962
- 31) KALOW, W.
Pharmakogenetische Probleme in der Anaesthesie
Anaesthesist 15 : 13 (1966)
- 32) KREUSCHER, H., W. DICK, P. KOMES und U. WENZEL
Die Pseudocholinesterase-Aktivität in der präan-
aesthetischen Phase beim chirurgischen Patienten
Anaesthesist 19 : 208 (1970)
- 33) LaMOTTA, R., CH. L. WORONICK and R.F. REINFRANK
Multiple forms of serum cholinesterase : Molecular
weights of the isoenzymes
Arch. Biochem. 136 : 448 (1970)
- 34) LANG, W.
Serumcholinesterase und Leberkrankheiten
Münch. med. Wschr. 105 : 1598 (1963)

- 35) LANGECKER, H.
Geschlechtsdifferenzen von Enzymaktivitäten in verschiedenen Organen
Arzneimittel - Forsch. 19 : 1769 (1969)
- 36) LEHMANN, H. and E. SILK
Succinylmonocholine
Brit. med. J. 1953, I : 767
- 37) MAIER, E.H.
Serumcholinesterase und Lebererkrankungen
Dtsch. med. Wschr. 81 : 1674 (1956)
- 38) MAYER MILSTOC
Cholinesterase activity in patients with rheumatoid arthritis
Amer. J. clin. Path. 53 : 452 (1970)
- 39) MENDEL, B. and H. RUDNEY
Studies on cholinesterase
1. Cholinesterase and pseudo-cholinesterase
Biochem. J. 37 : 59 (1943)
- 40) MENDEL, B., D.B. MUNDELL and H. RUDNEY
Studies on cholinesterase
3. Specific tests for true cholinesterase and pseudo-cholinesterase
Biochem. J. 37 : 473 (1943)
- 41) NIEBERLE, K. und P. COHRS
Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere S. 808 (4. Auflage)
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1962

- 42) PIETSCHMANN, H.
Unterschied der Aktivität von Serumcholinesterase und
Serumglutaminsäure-Oxallessigsäure-Transaminase bei
Erkrankung der Leber
Wien. Z. inn. Med. 41 : 409 (1960)
- 43) SIMPSON, N.E.
Genetics of esterases in man
Ann. N. Y. Acad. Sci. 151 : 699 (1968)
- 44) SCOTT, E.M.
Properties of the trace enzyme in human serum
cholinesterase deficiency
Biochem. biophys. Res. Commun. 38 : 902 (1970)
- 45) SPÖRRI, H. und H. STÜNZI
Pathophysiologie der Haustiere, S. 400
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1969)
- 46) STEDMAN, E. , E. STEDMAN and L. EASON
Cholin-esterase. An enzyme present in the
blood-serum of the horse
Biochem. J. 26 : 2056 (1932)
- 47) STRELITZ, F.
Studies on cholinesterase
4. Purification of pseudo-cholinesterase from
horse serum
Biochem. J. 38 : 86 (1944)
- 48) STUR, O. und O. THALHAMMER
Die Serumcholinesterase bei Neugeborenen
Wien. Z. inn. Med. 42 : 29 (1961)

- 49) THESLEFF, S.
The pharmacological properties of succinylcholine
iodide
Acta physiol. scand. 26 : 103 (1952)
- 50) ULLNER, W.
in: Handlexikon der tierärztlichen Praxis, S. 691
Medical Book Company, Kopenhagen 1966 (Stand 1969)
- 51) VACCARAZZA, J.R. and J.A. WILLSON
The relationship between blood cholinesterase activity
and neoplastic diseases
Experientia 21 : 405 (1965)
- 52) VORHAUS, L.J. and R.M. KARK
Serum cholinesterase in health and disease
Amer. J. Med. 14 : 707 (1953)
- 53) WEIDEMANN, H.E.
Die Serumcholinesteraseaktivität beim Leberparen-
chymschaden
Med. Klin. 58 : 1795 (1963)

Herrn Professor Dr. H. - H. Frey danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für seine stets gewährte Hilfe bei der Ausführung dieser Arbeit.

Gleichfalls gilt mein Dank Herrn Professor Dr. L. Felix Müller und allen Angehörigen der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin, deren Hilfe ich die Beschaffung des Untersuchungsmaterials verdanke.

LEBENS LAUF

Am 8. August 1941 wurde ich als drittes Kind meines Vaters, Dr. Ing. Lothar Meyer, und seiner Ehefrau Elma, geb. Gaebler, in Berlin geboren. Nach der Ausbombung 1943 in Berlin und 1945 in Dresden - hier wurde 1944 mein jüngster Bruder geboren - fanden wir nach Kriegsende bei meinen Großeltern Meyer in Bielefeld eine Bleibe.

In Bielefeld wurde ich im Frühjahr 1948 eingeschult. Im gleichen Jahr zogen wir nach Wiesbaden um, wo ich zunächst die Lorcher-Schule und dann die Hebbelschule besuchte. Die Aufnahmeprüfung in die Diltthey-schule bestand ich 1952 und am gleichen altsprachlichen Gymnasium 1961 auch das Abitur.

Nach einem halbjährigen technischen Praktikum bei MAN in Mainz-Gustavsburg begann ich im Herbst 1961 ein Ingenieurstudium an der TU Berlin. Dieses Studium brach ich 1964 ab und begann im Wintersemester 1964/65 das tierärztliche Studium an der Freien Universität Berlin.

Nach Bestehen des Vorphysikums 1965 und des Physikums 1966 beendete ich im Oktober 1969 das Studium mit dem Staatsexamen. Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 20. November 1969.

Seit April 1970 bin ich wissenschaftlicher Assistent mit Teilzeitbeschäftigung am Institut für Veterinär-Pharmakologie und -Toxikologie der Freien Universität Berlin.

123456789

am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei der
Arbeiter (PDA) aufgenommen. Ich war damals in der
PDA, die am 1. August 1981 in die PDA umgewandelt wurde.
Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen.

In Berlin wurde ich am 1. August 1981 in die Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen. Ich war damals in der
PDA, die am 1. August 1981 in die PDA umgewandelt wurde.
Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen.

Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen. Ich war damals in der
PDA, die am 1. August 1981 in die PDA umgewandelt wurde.
Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen.

Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen. Ich war damals in der
PDA, die am 1. August 1981 in die PDA umgewandelt wurde.
Am 1. August 1981 wurde ich als Mitglied der Partei
der Arbeiter (PDA) aufgenommen.

